

THESIS

MUNICH

1966

Alkalische Phosphatase und NAD
(Nicotinamid-adenin-dinucleotid)
der Leukozyten
chronischer myeloischer Leukämien
in verschiedenen Krankheitsphasen
und unter cytostatischer Therapie

ADELHEID DÖRMER

München

1966

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153513_0040

Aus der I. Medizinischen Klinik der Universität München

Direktor: Prof. Dr. H. Schwiegk

Alkalische Phosphatase und NAD (Nicotinamid-adenin-
dinucleotid) der Leukozyten chronischer myeloischer
Leukämien in verschiedenen Krankheitsphasen und
unter cytostatischer Therapie.

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Adelheid Dörmer

aus München

München 1966

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Universität München

Berichterstatter: Doz.Dr.H.Erhart
Mitberichterstatter: Prof.Dr.H.Schwiegk
Dekan: Prof.Dr.M.Kiese

Tag der mündlichen Prüfung: 6. 12. 1966

Fotodruck: Mikrokopie GmbH.München.Bruderstr. 9

Meinen Eltern
in Dankbarkeit gewidmet

I. Einleitung

1. Übersicht über die Physiologie und Pathologie der alkalischen Leukozytenphosphatase.
2. Nicotinamid-adenin-dinucleotid und seine klinische Bedeutung.

II. Eigene Untersuchungen

1. Einleitung und Fragestellung
2. Material und Methodik
3. Verhalten der alkalischen Leukozytenphosphatase in verschiedenen Phasen der menschlichen chronischen myeloischen Leukämie
 - a) bei unbehandelter Erkrankung
 - b) in Remission nach Absetzen der Therapie
 - c) in Remission unter gleichzeitiger zytostatischer Dauertherapie
 - d) im Rezidiv
 - e) im terminalen Blastenschub
 - f) bei zusätzlichem Infekt
4. ALP-Index im Vergleich zum simultan bestimmten Nicotinamid-adenin-dinucleotid.
5. Zusammenfassung der Ergebnisse.

III. Diskussion der Ergebnisse

IV. Zusammenfassung

V. Literatur

I. Einleitung

1. Übersicht über die Physiologie und Pathologie der alkalischen Leukozytenphosphatase.

Die ersten Berichte über das esterspaltende Ferment gehen auf das Jahr 1907 zurück. 1923 veröffentlichte ROBISON (41) eine Arbeit über die alkalische Phosphatase, die er in wachsenden Knochen nachgewiesen hatte und beschrieb ihre Funktion bei den Verknöcherungsvorgängen. 1931 folgte die Untersuchung von UMEMO (47) über die Glycerophosphatase der Leukozyten im Blut. VERZAR (52) erkannte Zusammenhänge zwischen Phosphatasewirkung und Zuckertransport durch das Dünndarmepithel und in den Nierentubuli. GEORGII und GOLDBRUNNER (12) fanden in Impfgeschwülsten von Mäusen phosphatasepositive Asciteszellen. Die alkalische Phosphatase in den Leukozyten (ALP) ist im Cytoplasma der neutrophilen Granulozyten nachzuweisen, sowohl bei stab- und segmentkernigen, als auch zuweilen bei Metamyelozyten. Die Kerne dieser Zellen besitzen keine alkalische Phosphatase-Aktivität (KAPLOW (20), SIROLA und SIROLA (43), WILTSHAW und MOLONEY (54)). Anfärbungen der Kerne sind Artefakte (VERCAUTEREN (51)). Phosphatasepositive Leukozyten findet man nicht nur im Blut, sondern auch im Knochenmark. SIROLA und SIROLA (43) halten sogar den Nachweis der ALP im Knochenmark für zuverlässiger als im peripheren Blut. Nach PLENERT (35) und SIROLA und SIROLA (43) geben im Knochenmark unter Umständen auch Formationen des retikuloendothelialen Systems eine phosphatasepositive Reaktion.

Zur quantitativen Bestimmung der ALP gaben VALENTINE und Mitarbeiter (49) eine Methode an, mit der, nach Zerstörung der Leukozytenmembran nach vorheriger Abtrennung der Leukozyten aus dem Gesamtblut, die Menge an Phosphat bestimmt wird, die von der alkalischen Phosphatase aus dem zugesetzten Na-Glycerophosphat freigesetzt wurde. Alle anderen, später mitgeteilten quantitativen Be-

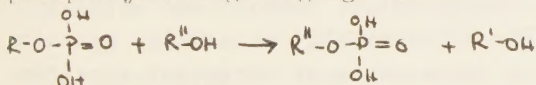
stimmungsmethoden beruhen auf demselben Prinzip. Die Enzymaktivität wird gemessen in mg Phosphat, das von der Phosphatase in 1 Stunde bei 37 Grad Celsius aus 10^{10} Granulozyten freigesetzt wird (mg Phosphat/ 10^{10} Granulozyten/1 Std.).

Die halbquantitative, technisch einfachere und deshalb gebräuchlichere Methode, die nach Aussage aller Autoren nach Einarbeitung ebenfalls zuverlässige Ergebnisse liefert, geht auf Arbeiten von GOMORI (13) und von TAKAMATSU (45) zurück. Es handelt sich hierbei um den cytochemischen Nachweis der Phosphatase in Geweben mittels der Succedanmethode. Dabei wird dem zugesetzten Glycerophosphat durch die alkalische Phosphatase ein Phosphatradikal abgespalten, das mit CaCl_2 zu Ca-Phosphat reagiert. Schließlich werden Kobaltchlorid und Ammoniumsulfat hinzugefügt. In mehreren chemischen Einzelschritten bildet sich nun Kobaltsulfid, welches als schwarzer Niederschlag im Cytoplasma sichtbar wird. Die Intensität der Farbniederschläge entspricht der Phosphatase-Aktivität der Zelle.

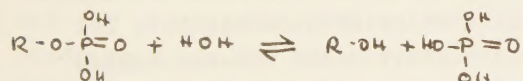
Die zweite bedeutende Methode zum cytochemischen Nachweis der ALP entwickelte KAPLOW (20) als Simultanmethode: Phosphatabspaltung und Bildung eines Farbniederschlages in Form eines Azo-Farbstoffes geschehen in einem Schritt nebeneinander. KAPLOW systematisierte auch die Beurteilung der Intensität der Farbstoffniederschläge und damit der Zellfermentaktivität, indem er die Niederschlagsintensitäten der Granulozyten in 4 Stufen einteilte. Zur Berechnung der mittleren ALP-Aktivität werden 100 Granulozyten im Blutaussstrich ausgezählt. Es wird die Zahl der in einer Stufe gefundenen Granulozyten mit dem jeweiligen Stufenfaktor multipliziert. Die Summe dieser 4 Produkte ergibt den Index der Phosphataseaktivität.

Der Nachweis der ALP wurde von vielen Hämatologen aufgenommen und teilweise auch modifiziert (KOCH und REMY (23), MERKER und HEILMEYER (30), HELBIG und WEISSEL (15)). MERKER und HEILMEYER (30) führten statt der 4 Phosphataseaktivitätsgrade 5 ein. Die Mittelwerte der Norm liegen bei den einzelnen Autoren verschieden hoch, je nach Bestimmungsart und Modifikation. Bei den meisten Untersuchern liegen sie unter 100, bei RANLØV (39) um 30, bei LINKE und LÖFFLER (26) bei 41,4, bei XEFTERIS und Mitarbeitern (55) sowie bei HELBIG und WEISSEL (15) um 80, bei MERKER und HEILMEYER (30) bei 43,3 mit einem Streubereich zwischen 10 und 100. Der von KOCH und REMY (23) angegebene Mittelwert liegt mit 180 ± 50 bedeutend höher. KERPPOLA (22) konnte mit der von ihm verwendeten Methode bei Normalfällen keine ALP-Aktivität nachweisen. Eine physiologische Erhöhung der ALP-Werte wird in der Schwangerschaft (QUIGLEY und Mitarbeiter (38)) und im Säuglingsalter (PLENERT (35)) gefunden.

MEYERHOF und GREEN (31) sowie MORTON (32) entdeckten, daß Phosphatasen eine katalytische Wirkung auf Transphosphorylierungsvorgänge haben:



Eine andere biochemische Funktion ist die katalytische Wirkung auf Hydrolyse und Synthese von Phosphaten:



Über die Funktion der ALP in Bezug auf den Granulozytenstoffwechsel gibt es bis jetzt nur Vermutungen. Von VALENTINE und Mitarbeitern (50) wurde behauptet, daß dieses Ferment in der Reaktion des Organismus auf Infekte und andere Stress-Formen eine Rolle spielen könne. Es sei aber auch möglich, daß die ALP in den eigenen Stoffwechsel der Zelle eingeschaltet sei, sei es bei der Glyko-

neogenese oder bei der Nukleinsäuresynthese. Die gleichen Autoren stellen zur Diskussion, daß die neutrophilen Granulozyten für dieses Ferment als Transportmittel vom Knochenmark zu anderen Stellen dienen. RANLØV (39), VACCARI und Mitarbeiter (48), QUIGLEY und Mitarbeiter (38) und VALENTINE und Mitarbeiter (50) beschreiben eine Erhöhung der ALP-Aktivität bei Schock, Operationen, Schwangerschaft und Infektionen. Alle diese Reaktionen des Organismus seien mit einer Zunahme des Energiestoffwechsels verknüpft, bedingt durch die Erhöhung des Corticoidspiegels im Blut. - KAPLOW (20) stellte fest, daß die ALP in keiner Beziehung zur Serumphosphatase steht. Die Möglichkeit einer Abhängigkeit der ALP von Plasmafaktoren wurde von LOHMANN und WEISSEL (28) untersucht. Diese Autoren trennten die Leukozyten vom Serum bei Normalpersonen und bei Patienten mit pathologischen ALP-Verhältnissen und inkubierten die getrennten Leukozyten in den verschiedenen Seren. Eine Veränderung der ALP-Aktivitätswerte ergab sich nur dann, wenn die Granulozyten von Normalpersonen in Seren inkubiert wurden, die von Patienten mit erhöhter ALP-Aktivität stammten. Hierbei wurde ein Anstieg der ALP-Werte bei 10 Versuchen um das Doppelte bis Dreifache festgestellt. LOHMANN und WEISSEL schließen daraus, daß die ALP-Aktivität nicht eine unveränderliche, die Zelle kennzeichnende Größe darstelle, sondern daß die Enzymaktivität auch von Faktoren des umgebenden Plasma mitbestimmt werde. Von welchen Plasmafaktoren nun speziell die ALP-Aktivität abhängig ist, ist noch nicht bekannt. Dieser Arbeit waren Untersuchungen von WILTSHAW und MOLONEY (54) vorausgegangen, bei denen im Gegensatz hierzu keine Abhängigkeit der ALP von einer Plasmainkubation festgestellt werden konnte.

Das Verhalten der ALP wurde von zahlreichen Untersuchern bei den verschiedensten Krankheitsbildern geprüft. Es ging bei diesen Arbeiten sowohl um die Frage nach

ihrer Funktion als auch um ihre Verwertbarkeit als differentialdiagnostisches Hilfsmittel bei den einzelnen Krankheiten. Die Ergebnisse der verschiedenen Arbeitsgruppen decken sich nicht immer.

ALP im Normbereich

VALENTINE und Mitarbeiter (49) fanden normale ALP-Aktivitäten bei Untersuchungen von Patienten mit akuten und chronischen rheumatischen Erkrankungen. RANLØV (39) beschrieb normale ALP-Aktivitäten bei Patienten mit chronischen Infekten, mit Morbus Hodgkin, mit Morbus Boeck und mit Perniciosa. Auch bei Thrombopathien fand man Werte der ALP im Bereich der Norm (MERKER und HEILMEYER (30), TANAKA und Mitarbeiter (46)).

Erniedrigte ALP

wurde beschrieben bei Patienten mit Kollagenkrankheiten mit Ausnahme des Lupus erythematodes (SIROLA und SIROLA (43), TANAKA und Mitarbeiter (46)), mit allergischen Affektionen sowie endokrinen und neurologischen Erkrankungen, mit hyperchromer Anämie und kryptogenetischer Perniciosa (SIROLA und SIROLA (43)). Auch für die symptomatische Polyglobulie ergab sich eine Erniedrigung der ALP (SIROLA und SIROLA (43), KOCH und REMY (23)). Besonders zahlreiche Untersuchungen liegen über die ALP bei der chronischen Myelose vor. Befunde über eine Erniedrigung der ALP bei chronischer Myelose wurden veröffentlicht von CARRONE und Mitarbeiter (3), von ACKERMAN (1), von HELBIG und WEISSEL (15), von KEISER und ALS⁺LIEBEN (21), von KOCH und REMY (23), KRUG (24), LAMBERS (25), LINKE und LÖFFLER (26), MEISLIN und Mitarbeiter (29), MERKER und HEILMEYER (30), PLENERT (35), RANLØV (39), SIROLA und SIROLA (43), VALENTINE und Mitarbeiter (49), WILTSHAW und MOLONEY (54), XEFTERIS und Mitarbeiter (55).

Erhöhte ALP-Werte

wurden gefunden bei Patienten mit bakteriellen Infektionen von WACHSTEIN und MIDDLETON (53), VALENTINE und Mitarbeiter (49), WILTSHAW und MOLONEY (54), MERKER und HEILMEYER (30), nach Operationen (VALENTINE und Mitarbeiter (50)) und anderen Stress-Arten (VALENTINE und Mitarbeiter (50)), sowie bei Patienten mit malignen Tumoren (KERPPOLA (22), SIROLA und SIROLA (43), RANLØV (39), MERKER und HEILMEYER (30)).

Auch bei Lebercirrhose (SIROLA und SIROLA (43)), bei der Perniciosa (SIROLA und SIROLA (43), LAMBERS (25), MERKER und HEILMEYER (30)) und bei Patienten mit kongenitaler hämolytischer Anämie (MERKER und HEILMEYER (30)) ergaben sich ALP-Erhöhungen.

Für eine größere Zahl von Hämoblastosen liegen ebenfalls Ergebnisse von erhöhter ALP-Aktivität vor, so bei der Polycythaemia vera (VALENTINE und Mitarbeiter (49), SIROLA und SIROLA (43), RANLØV (39), LAMBERS (25), KOCH und REMY (23), MERKER und HEILMEYER (30)), bei akuter Stammzellenleukämie (RANLØV (39), LAMBERS (25), MERKER und HEILMEYER (30)) und bei chronischer Lymphadenose (RANLØV (39), MERKER und HEILMEYER (30)).

Ebenso wurde eine erhöhte ALP-Aktivität auch bei der Panmyelophthase (KERPPOLA (22), SIROLA und SIROLA (43), LAMBERS (25)), bei Osteomyelosklerose und Osteomyelofibrose gefunden (LAMBERS (25), RANLØV (39), KOCH und REMY (23), KRUG (24), MERKER und HEILMEYER (30)).

Aus diesen Untersuchungen ergibt sich, daß die ALP zur differentialdiagnostischen Unterscheidung einzelner Krankheitsbilder dienen kann. Mit ihrer Hilfe kann man zum Beispiel die chronische Myelose von der Osteomyelosklerose, die sich klinisch und hämatologisch oft sehr ähneln, abtrennen. Auch besteht die Möglichkeit, die ALP als differentialdiagnostisches Hilfsmittel bei Polycythaemia vera und Polyglobulie, bei leukämoider Reaktion und echter Leukämie zu verwenden. (Siehe Tabelle 1).

Autor	Diagnose	ALP-Aktivität
MERKER u.HEILMEYER	Normbereich	10 - 100
MERKER u.HEILMEYER	chron.Myelose	5,6
MERKER u.HEILMEYER	Osteomyelosklerose	251
MERKER u.HEILMEYER	Polycythaemie	144
RANLØV	Polyglobulie	normale Aktivität
RANLØV	leukämoide Reaktion	erhöhte Aktivität

Tabelle 1

ALP-Aktivität und Chromosomenstruktur

In den letzten Jahren hat die ALP eine besondere Bedeutung dadurch erlangt, daß ihre Aktivität in Bezug auf die Chromosomen untersucht werden konnte. Aus der biochemischen Forschung der letzten 20 Jahre ist bekannt, daß jede Fermentsynthese über die RNS von der DNS der Gene gesteuert wird (siehe Abb.1a).

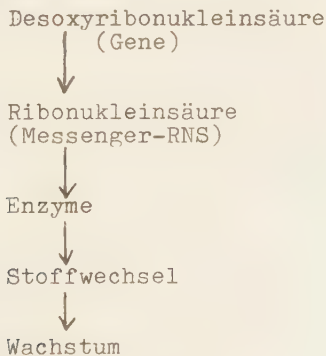


Abb.1a: Nukleinsäuren und Wachstum nach HOLZER (16)

Besonderes Interesse kam der ALP bei der Feststellung zu, daß beim Mongoloidismus, wo ein zusätzliches Chromosom in der Gruppe 21 gefunden wurde, eine ausgesprochen hohe Aktivität der ALP vorliegt, während bei der chronischen Myelose, die durch das Vorhandensein eines "minute chromosome" (Philadelphia Chromosom, Ph¹) in der Gruppe 21 gekennzeichnet ist, die ALP deutlich erniedrigt ist (DE CARLI und Mitarbeiter (4)).

Es erschien zunächst möglich, auf diese Weise Gene für ein bestimmtes Ferment an einer bestimmten Stelle eines der 23 Chromosomenpaare des Menschen zu lokalisieren. So machten NOWELL und HUNGERFORD (34) bei Chromosomenanalysen von 10 Patienten mit chromischer Myelose die Feststellung, daß bei 9 von 10 Patienten eines der 4 kleinen Chromosomen beträchtlich kürzer war, wahrscheinlich durch den Verlust seines längeren Armes. Es erschien den Autoren möglich, daß die Chromosomenveränderung im Sinne eines chromosomalen Substanzverlustes bei der chronischen Myelose die Proliferationsfähigkeit der Zellen und auch den ALP-Spiegel im Sinne einer Erniedrigung beeinflußt.

DECARLI und Mitarbeiter (4) erforschten die alkalische Phosphatase-Aktivität (AP) menschlicher Zellen in Gewebekulturen. Bei Chromosomenanalysen eines heteroploiden Stammes aus einer menschlichen Zellkultur ergab sich ein sehr hoher AP-Wert. Dagegen war die AP bei 2 Tochterstämmen, die nur die Hälfte der kurzen akrozentrischen Chromosomen besaßen, sehr niedrig. Wegen der großen Variabilität der Chromosomenzahl in der Gewebekultur ließ sich aus diesen Untersuchungen jedoch nur schließen, daß die Aktivität der AP nicht von dem Vorhandensein eines einzelnen Chromosomen abhängen kann. REMY (40) diskutiert die Möglichkeit, daß das Chromosom 21 oder 22 die Gene trägt, die die AP beeinflussen, aber nicht unmittelbar induzieren.

HAMMOUDA und Mitarbeiter (14) untersuchten cytochemisch, cytogenetisch und autoradiographisch 4 Fälle terminaler Umwandlung einer chronischen Myelose in eine cytologisch

akute Form, jeweils verbunden mit einer Zunahme der ALP-Aktivität von einer niedrigen Stufe bis über den Normalbereich. In 3 der 4 berichteten Fälle war der akute Schub der chronischen Myelose mit dem Auftreten weiterer Chromosomenanomalien verbunden. Trotz der Zunahme der ALP war kein Ersatz des Ph^1 -Defekts im Chromosom 21 zu beobachten. Wenn der Mangel an ALP bei der chronischen Myelose abhängig wäre vom Verlust genetischen Materials im Chromosom 21 (Ph^1 -Chromosom), hätte man mit dem steilen Anstieg der ALP beim Blastenschub ein Wiedererscheinen des anscheinend verlorenen Materials erwarten müssen. Das war jedoch nicht der Fall. Die Autoren lehnen deshalb jede vereinfachende Hypothese, die den morphologischen Defekt des Philadelphia-Chromosoms mit dem funktionellen Mangel an ALP direkt in Beziehung setzt, ab.

2. Nicotinamid-adenin-dinucleotid und seine klinische Bedeutung.

Das NAD ist ein Coenzym für zahlreiche Dehydrogenasen und dient der Übertragung von Wasserstoff an die Enzyme der Atmungskette. Der in der Glykolyse freiwerdende Wasserstoff wird ausschließlich vom NAD übertragen. Strukturell ist es ein Dinucleotid, dessen eine Base ein Molekül Adenin, und dessen andere Base das Nicotinsäureamid darstellt. Das Nicotinsäureamid ist die für die Wasserstoffübertragung entscheidende Gruppe, da es den Wasserstoff reversibel als Hydridion an den Ring binden kann.

Der Nachweis des NAD wird dadurch ermöglicht, daß die reduzierte Form im Ultraviolettlicht im Gegensatz zur oxydierten Form eine deutliche Absorption aufweist. Zur Bestimmung des NAD-Gehaltes wird das zu untersuchende Gemisch zunächst in der reduzierten und dann in der oxydierten Form bei einer Wellenlänge von 340 m μ gemessen. Aus dem Extinktionsunterschied beider Messungen läßt sich mit Hilfe des molaren Extinktionskoeffizienten von NADH der NAD-Gehalt sodann berechnen.

Als ROITT (42) und HOLZER und Mitarbeiter (17) nachweisen konnten, daß durch die Zytostaticagabe der NAD-Gehalt in experimentellen Tiertumoren deutlich absinkt, rückte dieses Coenzym in den Blickpunkt des Klinikers. Die Erklärung, daß die zytostatikabedingte Wachstumshemmung im Tumor auf einer Störung der NAD-abhängigen Enzymreaktionen der Glykolyse durch Senkung des NAD-Gehalts der Zellen beruhe, bot sich an (18). Zwar blieb diese Erklärung der Zytostaticawirkung nicht unwidersprochen (27), doch bleibt davon die klinische Bedeutung des zellulären NAD-Gehalts als ein Maß der zytostatischen Wirkung unberührt. Es bot sich deshalb an, bei Hämoblastosen den NAD-Gehalt vor und während zytostatischer Therapie zu untersuchen. Diese Untersuchungen wurden durch die methodologischen Arbeiten von EHRHART und Mitarbeitern (6,7) über die Leukozytenisolierung und die Bestimmung des NAD-Gehalts in isolierten Leukozyten ermöglicht. Das tiereperimentell gefundene Verhalten des NAD-Gehalts unter Zytostaticawirkung konnte dadurch für die Leukosen des Menschen bestätigt werden (6,9). Es ergab sich darüber hinaus aber noch die Möglichkeit, anhand des NAD-Gehalts leukämischer Zellen in Abhängigkeit von der Zytostaticagabe Aussagen über die klinische Situation und den Erfolg der Behandlung zu machen (10). So erwies sich ein Absinken des NAD-Gehalts bei Myelosen während zytostatischer Behandlung als ein gutes Indiz für eine richtig eingeschlagene Therapie, das den klinischen Zeichen der Remission vorausgehen kann. Andererseits kann das erneute Ansteigen des NAD-Gehalts leukämischer Zellen das erste faßbare Zeichen eines beginnenden Rezidivs sein.

II. Eigene Untersuchungen

1. Einleitung und Fragestellung

In dieser Arbeit wurde die Aktivität der alkalischen Leukozytenphosphatase bei Patienten mit chronischer myeloischer Leukämie in allen Phasen der Erkrankung verfolgt. Es wurde insbesondere untersucht, ob gesetzmäßige Erhöhungen oder Erniedrigungen des ALP-Gehaltes in Krankheitsphasen mit und ohne Therapie, im Rezidiv, während der Remission oder im Blastenschub vorhanden waren, und ob durch besondere Situationen, wie z.B. ein zusätzlicher Infekt, Veränderungen aufzuzeigen waren.

Die Untersuchungen wurden an 75 teils stationären, teils ambulanten Patienten der I. Medizinischen Universitätsklinik, München, durchgeführt. Unter diesen befanden sich 35 Patienten mit chronischer Myelose, an denen über eine Zeitspanne von mehr als 2 Jahren in 450 Einzelbestimmungen die ALP-Aktivität verfolgt wurde. Das Alter dieser Patienten lag zwischen 29 und 65 Jahren, das Verhältnis männl.:weibl. war 1:1.

Bei 5 der Patienten mit chronischer Myelose wurden in zunächst noch unbehandeltem Zustand ALP-Untersuchungen durchgeführt. Bei 30 Patienten mit chronischer Myelose wurde der NAD-Gehalt der Leukozyten bestimmt, bei 12 von ihnen simultan zur ALP-Aktivitätsbestimmung. Der Durchschnittswert der ALP bei der chronischen Myelose lag bei Index 18 mit einem Streubereich zwischen 0 und 220 (siehe Tabelle 4).

Wir führten diese Untersuchungen nicht zuletzt auch in der Absicht durch, zu klären, ob sich auf diese Weise vorhandene Widersprüche in der Literatur über die ALP-Aktivität bei chronischer Myelose verständlich machen lassen. Hierbei war es wichtig, bei den gleichen

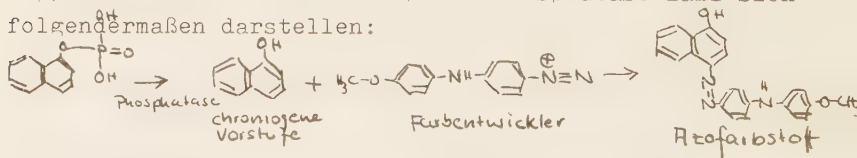
Patienten Untersuchungen in Form von Längsverläufen über mehrere Jahre durchzuführen.

Durch die teilweise gleichzeitige Bestimmung von NAD-Gehalt und AP-Aktivität der Leukozyten sollte untersucht werden, in wie weit diese beiden Systeme ein gleichartiges Verhalten im Verlauf der chronischen Myelose aufweisen und ob eventuell eines der beiden empfindlicher die klinischen Schwankungen bei dieser Erkrankung anzeigte. Die Suche nach einem möglichst empfindlichen Indikator für Phasenänderungen während der chronischen Myelose ergibt sich aus dem Bedarf des Therapeuten, der sich mit seiner Behandlung frühzeitig auf Veränderungen des Krankheitscharakters einstellen möchte.

2. Material und Methodik

Unserer Bestimmung der alkalischen Leukozytenphosphatase lag das Azokupplungsverfahren von KAPLOW (20), modifiziert nach MERKER und HEILMEYER (30) zu Grunde.

Als Substrat wurde α -Naphthylphosphorsäure, als Diazoniumsalz Variaminblausalz B conc. (4-Methoxy-4-aminodiphenylaminsulfat) genommen. Die simultane Kupplungsreaktion und Wirkung der Phosphatase läßt sich folgendermaßen darstellen:



Verwendet werden bis 3 Tage alte, luftgetrocknete Blutausrichthe.

Arbeitsgang:

- 1.) Fixation: Die Blutausrichthe werden 15 Minuten über dem Dampf 37%igen Formalins bei Zimmertemperatur fixiert.
- 2.) Spülen in Leitungswasser, an der Luft getrocknet.

- 3.) Inkubation: Die Substratmischung wurde bei jeder Färbung frisch angesetzt. 70 mg α -Naphthylphosphorsäure wurden mit 70 ml 2%igem Veronalnatrium gelöst; ebenso 140 mg Variaminblausalz B conc. in 70 ml 2%igem Veronalnatrium; letztere Lösung wurde in die α -Naphthylsäure filtriert. Die Inkubation in der Küvette erfolgte 1 Stunde lang im Kühlschrank bei 4°C (um Zersetzungsprodukte zu vermeiden, ist eine etwas tiefere Temperatur und deshalb längere Inkubationszeit erforderlich als KAPLOW (20) angegeben hatte).
- 4.) Spülen in Leitungswasser, an Luft getrocknet.
- 5.) Gegenfärbung mit Hämalaun 8 Minuten.

Auswertung der Präparate

Bei der genauen Auswertung der Präparate soll vermieden werden, daß in einem Bereich des Blutaussstriches gezählt wird, in dem die Erythrozyten weit auseinander liegen, sich in ihren Randgebieten überschneiden oder in mehreren Schichten übereinanderliegen. Auch muß man beachten, daß die Farbtintensität schon nach einigen Tagen deutlich abnimmt. Die Ausstriche sollen also möglichst sofort ausgewertet werden. Die Azofarbstoffniederschläge sind in Xylol, Alkohol und auch im Immersionsöl mehr oder weniger stark löslich. Die Granulozyten stellen sich mit blauen Kernen dar; die phosphatasepositiven Zellen sind gekennzeichnet durch feine dunkelbraune Granula. Normalerweise enthält nur jeder 3. Granulozyt einen Farbniederschlag (PLUM (36)).

Es wurden jeweils 100 neutrophile Granulozyten (segment- und stabkernige) im Ausstrich ausgezählt und je nach ihrer Farbtintensität, d.h. Stärke der ALP-Aktivität einem 0 - 5 -System zugeordnet:

0 = keine Farbniederschläge im Zytoplasma,

1 = eben erkennbare, meist kernnah liegende, wenige feine braune Granula,

2 = weitere Zunahme der Granula,

- 3 = die Granula sind homogen über das ganze Zytoplasma verteilt; die Zelle ist noch transparent.
- 4 = Verdichtung der Granula zu fleckförmigen, undurchsichtigen schwarzen Niederschlägen. Zellkerne gerade noch sichtbar.
- 5 = Zelle verliert jegliche Transparenz. Ausfüllung mit einer schwarzen Farbstoffmasse. Zellkern meist nicht mehr zu erkennen. (Siehe dazu Abbildungen 1-5)

Unter 100 Granulozyten wird die Zahl der niederschlagspositiven Zellen ermittelt, und diese werden der Intensitätsstufe 1-5 zugeordnet. Die Anzahl von Zellen innerhalb der einzelnen Stufen wird mit dem Stufenfaktor(0-5) multipliziert; die erhaltenen Produkte werden addiert und ergeben den Aktivitätswert der ALP. Er ist dem absoluten Wert angenähert, da durch die Methodik ein Teil der Aktivität verlorengeht.

Stufe	Anzahl d.Zellen in %	Multiplikations- Faktor	ALP
0	60	0	-
1	19	1	19
2	15	2	30
3	6	3	18
4	-	4	-
5	-	5	-
Phosphataseindex			67

Tabelle 2: Errechnung des Phosphataseindex in reifen Granulozyten (Normalfall)

Bestimmung des Nicotinamid-adenin-dinucleotid-Gehaltes der Leukozyten.

Die Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NAD)-Bestimmung in Leukozyten aus menschlichem peripheren Blut setzt ein einwandfrei funktionierendes Verfahren zur Leukozyten-isolierung voraus. Sie erfolgte nach der von EHRHART und DÖRFLER (7) angegebenen Methode. Hierzu werden 20-100 ml Venenblut in einer silikonisierten Spritze aufgezogen. Bei der Blutentnahme wird langsam und ohne Schaumbildung mit wenig Heparin im toten Raum der Spritze aspiriert und dieses mit dem entnommenen Blut gut vermischt. Nach Abnahme des Zylinderaufsatzes des für diesen Zweck konstruierten Isoliergerätes wird das Blut dem im unteren Teil des eisgekühlten Isoliergerätes befindlichen Quecksilber aufgeschichtet, verschlossen und konstant bei $+8$ bis $+10^{\circ}\text{C}$ und einer Tourenzahl von 800 U/min zentrifugiert. Bei größeren Blutmengen ab 4 ml, empfiehlt sich der Einsatz eines Kunststoffkreuzes in das Isoliergerät. Es soll die Verquirrlung der verschiedenen Blutzellschichten beim Abbremsen der Zentrifuge verhindern. Um ein gutes Absetzen der Leukozytenschicht auf die darunter befindlichen Erythrozyten im Druckrohr zu erzielen, genügt eine Zentrifugierzeit von höchstens 20 Minuten. Anschließend wird das Zentrifugenglas mit dem Hg-Behälter verbunden und so langsam angehoben, daß auch der Quecksilberstempel im inneren Gefäß zu steigen beginnt. Der Dichteskala entsprechend schieben sich die einzelnen Blutzellfraktionen zunächst im Zylinderanteil, dann im kapillären Anteil hoch, fließen schließlich aus der Kapillare aus und können als Tropfen abgefangen werden. Die ersten 5-10 Tropfen werden verworfen und 3-4 ml Plasma im Zentrifugenglas aufgehoben. Die der Plasma-Thrombozytenschicht folgende Leukozytenschicht wird aufgefangen und abgewogen. Plasma und Leukozyten müssen nach dem Auffangen in Eiswasser weiter kühl gehalten werden. 0,5 ml der Erythrozytenschicht läßt man zunächst abtropfen, um den obersten Anteil der Erythrozytenschicht,

der noch Leukozyten enthält, zu entfernen. Erst die folgenden Erythrozyten fängt man in einem gekühlten Zentrifugenglas auf. Der gesamte Isolierungsvorgang wird bei +8 bis +10°C durchgeführt.

NAD-Bestimmung

Die NAD-Analysen von Leukozyten, Erythrozyten und Thrombozytenplasma wurden mit einer enzymatischen Methode zur quantitativen Bestimmung stationärer Konzentrationen wasserstoffübertragender Pyridin-Cofermente durchgeführt.

a) Leukozyten:

Die isolierten Leukozyten werden vorsichtig aufgeschüttelt, der Leukozytengehalt/mm³ bestimmt und zum Ausschluß des Erythrozytenfehlers die in der Leukozytensuspension mitenthaltenen Erythrozyten/mm³ ausgezählt. Die isolierten Zellen werden mit dem Ultra-Turrax 15 sec bei 24 000 U zerschlagen und mit 6%iger Perchlorsäure enteiweißt. Ihre Menge richtet sich nach dem Flüssigkeitsgehalt der Leukozytenprobe (EHRHART und SCHEFFEL (8)). Der Flüssigkeitsgehalt der Leukozytenprobe ergibt sich aus der Differenz des Gewichtes der gesamten isolierten Leukozytenschicht (Leukozyten und Plasma) und des Zellanteils in ml. Es wird soviel Perchlorsäure hinzugefügt, daß sich die Summe aus extracellulärer Flüssigkeit und der zuzufügenden Perchlorsäuremenge zu dem ursprünglichen Gewicht der Gesamtprobe wie 4:1 verhält. Die Berechnung der zur Enteiweißung einer Leukozytenprobe notwendigen Perchlorsäuremenge soll an dem folgenden Beispiel erläutert werden:

Gesamtgewicht der Leukozytenschicht in g.....1,45

Zellanteil in ml.....0,22

Differenz(=extracellulärer Flüssigkeitsgehalt).1,23

1,23 ml + 4,57 ml → 5,80 ml

5,80 : 1,45 = 4:1

Das Gewicht der isolierten Leukozytenschicht aus 40-80 ml heparinisiertem peripheren Blut normaler Probanden liegt im Durchschnitt bei 0,863 g. Im überstehenden Plasma-Thrombozytenanteil konnte kein NAD-Gehalt nachgewiesen werden. Die Verunreinigung der Leukozytenschicht mit Plasma spielt deshalb bei der Bestimmung des Leukozyten-NAD keine Rolle, auch konnte ein Waschen der Leukozyten unterbleiben. Die Berücksichtigung des Erythrozytenfehlers wird später beschrieben.

Nach Zusatz der berechneten Perchlorsäuremenge zum Leukozytenhomogenisat wird das Gemisch zur Entweißung umgerührt, anschließend 5 min bei 5 000 U/min zentrifugiert und der gewonnene klare Überstand abgemessen. Ihm werden 0,035 ml Methylorangeindikator zugesetzt und solange unter gutem Rühren langsam tropfenweise Kalium-Carbonat-Lösung (5 mol) zur Neutralisation zugegeben, bis die Farbe von rosa nach gelb umschlägt (pH ca 7,6). Die neutralisierte Flüssigkeit wird wieder quantitativ bestimmt und kurz zentrifugiert, um das entstandene unlösliche Kaliumperchlorat abzusetzen. Vom klaren Überstand werden 2 ml in die Meßküvette einpipettiert und mit 4 ml eines Puffers (3,3g Natriumpyrophosphat, 0,6g Semicarbacidhydrochloricum, 20-30 ml Aqua dest., 2n NaOH → pH 8,7/ad 96 ml Aqua dest. + 4 ml abs. Alkohol) gut vermischt. Das Puffergemisch muß kurz vor Gebrauch frisch angesetzt werden. Die Messung der Extinktion im Zeiss-Spektralphotometer erfolgt bei 340 m μ . Es werden 5 verschiedene Messungen nach jeweiliger Nullwerteinstellung gegen Luft vorgenommen und der arithmetische Mittelwert festgestellt. Unter gutem Rühren werden der Küvette 0,05 ml einer Suspension von 1:5 verdünnter Alkoholdehydrogenase (ADH Boehringer) zugesetzt. Nach 45 sec werden wie oben 5 Extinktionswerte festgelegt und ihr Mittelwert

für die weitere Berechnung notiert. Um den Leerwert des ADH zu ermitteln, gibt man noch einmal 0,05 ml der ADH-Suspension unter Umrühren in die Küvette; Die Extinktion wird notiert. Von der Differenz der ersten beiden Extinktionen (vor ADH-Zugabe und nach 1. ADH-Zugabe) subtrahiert man die Extinktion der 2. ADH-Zugabe und erhält jetzt die E_{Δ} , die zur Berechnung des NAD μ /ml Leukozyten erforderlich ist.

b) Erythrozyten:

2 ml der isolierten Erythrozyten gibt man in 2 ml physiologische NaCl-Lösung. Die Suspension wird aufgeschüttelt und der Leukozyten- und Erythrozytengehalt/mm³ bestimmt. Anschließend werden die Erythrozyten wie oben beschrieben im Ultra-Turrax bei 15 sec/24 000 U zerschlagen, enteiweißt und bis zur photometrischen Bestimmung weiter verarbeitet.

c) Plasma:

Das Plasma wird bei 6 000 U/min 5 min lang bei +10°C zur Entfernung noch suspendierter Thrombozyten, Leukozyten und Erythrozyten zentrifugiert. 2 ml Plasma werden abpipettiert und in ein mit 6%iger Perchlorsäure vorbereitetes Zentrifugenglas gegeben. Der weitere Arbeitsvorgang folgt der NAD-Bestimmung in den Leukozyten.

Berechnung:

Die Berechnung des NAD-Gehaltes in μ /ml Plasma bzw. Leukozyten- oder Erythrozytensuspension wird nach folgender Formel durchgeführt:

$$N A D = \frac{E_{\Delta} \cdot V_k \cdot V_n \cdot V_p \cdot Mol}{E \cdot d \cdot V_{pp} \cdot V_s \cdot V_B} [\mu/ml]$$

Dabei bedeutet:

E_{λ} = Extinktionsdifferenz vor und nach Ablauf der Reaktion,

V_k = ml Flüssigkeit in der Küvette bei der Messung.
(Das Volumen der ADH-Suspension wird nicht berücksichtigt)

V_n = ml des gesamten neutralisierten Eluats.

V_p = ml des Gemisches von Perchlorsäure und der zur Messung genommenen Probe.

Mol = Molekulargewicht von NAD,

E = molarer Extinktionskoeffizient bei 340 m μ ,

d = Dichte der Schicht in der Küvette in ml,

V_{pp} = ml Eluat, das in die Küvette zur Messung einpipettiert wurde,

V_s = ml des klaren Eluats, das sich nach der Enteiweißung bildet,

V_B = ml der zur Enteiweißung entnommenen Probe.

Bei der Berechnung des NAD-Gehaltes der gewaschenen Erythrozyten in f/ml wird die minimale in der Erythrozytensuspension nach dem Waschen noch verbleibende Leukozytenmenge nicht berücksichtigt. Aus den Erythrozyten/ mm^3 in der Suspension und dem gefundenen NAD-Wert läßt sich das NAD in $f/10^9$ Erythrozyten berechnen. Auf gleiche Art wird bei der Bestimmung des NAD-Gehaltes in der Leukozytensuspension verfahren. Jedoch muß hierbei zusätzlich der Erythrozytenfehler ausgeschlossen werden, da in der Leukozytenschicht von Fall zu Fall wechselnde Anteile mitsuspendierter Erythrozyten enthalten sein können. Der Erythrozytenfehler wird aus dem oben ermittelten Erythrozyten-NAD und der nach der Leukozytenisolierung im Konzentrat bestimmten Erythrozytenzahl berechnet und von der Gesamt-NAD-Aktivität der Leukozyten in f/ml . Das NAD in $f/10^9$ Leukozyten wird entsprechend der bei den Erythrozyten vorgenommenen Umrechnungen ermittelt.

Patientengruppe	Zahl d.Pat.	NAD-Spiegel Mittelwert $\mu/10^9$ Leukozyten
Norm	20	32,0
chron. Myelose	25	59,2
chron. Myelose in Teilremission	27	44,7
chron. Myelose in Remission	6	29,4
chron. Lymphadenosen	12	51,7

Tabelle 3: NAD-Gehalt normaler und pathologischer menschlicher Leukozyten des peripheren Blutes (nach EHRHART und SCHEFFEL (8)).

Die Definition der einzelnen Phasen im Verlauf der chronischen Myelose, der klinisch-hämatologischen Remission nach Therapie, der klinisch-hämatologischen Teilremission nach Therapie, des Rezidivs und des Blastenschubes bezieht sich auf Befunde des Knochenmarks, des peripheren Blutbildes und der klinischen Symptomatik (EHRHART (5),(6)).

1. Während der klinisch-hämatologischen Remission nach Therapie sollen sich im Knochenmark keine leukämischen Zellen mehr nachweisen lassen, ferner soll der Anteil von Myeloblasten beim Erwachsenen weniger als 5% aller kernhaltigen Zellen ausmachen. Die Granulopoese, Erythropoese und Thrombopoese soll qualitativ und quantitativ normal sein, mit Ausnahme von morphologischen Veränderungen, die eindeutig auf die angewandte Medikation zu beziehen sind. Im peripheren Blut wird ein Ansteigen des Hämoglobin über 12g% und der Thrombozyten über 100 000 gefordert. Die absolute

Granulozytenzahl soll über 2 000/mm³ betragen. Die Patienten sollen frei von leukämischen Infiltraten und von allen auf die Leukämie zu beziehenden Symptomen sein.

2. Die klinisch-hämatologische Teilremission nach Therapie ist im Knochenmark durch ein anteilsmäßiges Ansteigen der normalen Leukopoese, Erythropoese und Thrombopoese über einen Zeitraum von mindestens 2 Wochen oder länger gekennzeichnet. Die normale Myelopoese soll mehr als 30% der kernhaltigen Zellen ausmachen, der Anteil der leukämischen Zellen, Lymphozyten und Blasten weniger als 70% betragen. Im peripheren Blut des Patienten tritt eine Besserung ein, auf die Leukämie zu beziehende Symptome sind aber noch vorhanden.

3. Die klinisch-hämatologische Remission muß als beendet, d.h. das Rezidiv als begonnen angesehen werden, wenn im Knochenmark die Zahl der leukämischen Zellen auf 20% und mehr ansteigt und im peripheren Blut der Anteil von Leukämiezellen 10% des Differentialblutbildes übersteigt, wenn klinische Befunde leukämischer Infiltrate auftreten und Symptome festzustellen sind, die auf die leukämische Erkrankung zurückzuführen sind.

Zahl d.Pat.	Diagnose	ALP-Aktivität Mittelwert	Streubereich
30	Normalfälle	76	50-100
10	Polycythaemia vera	293	216-355
35	chron.Myelose	18	0-220

Tabelle 4: ALP-Aktivität in normalen und pathologischen menschlichen Leukozyten des peripheren Blutes.

Beim Überblick über die Verläufe der ALP-Aktivität bei den 35 beobachteten Patienten mit chronischer Myelose kann man nach der unterschiedlichen Fermentaktivität 3 Gruppen unterscheiden.

1. Gruppe: ALP stets um Null (10 Patienten)
2. Gruppe: ALP erniedrigt, schwankt aber bis zum Normalbereich (15 Patienten)
3. Gruppe: ALP erniedrigt bis normal, zeitweise stark erhöht.

Zur Gruppe 1: Sch. G., 33jähriger Mann

4 Jahre vor dem Tode Beginn der chronischen Myelose. Abwechselnd Zustände mit Fieber und Abgeschlagenheit und vorübergehender Besserung. Frühjahr 1961 Diagnosestellung der chronischen Myelose. Stationäre und ambulante Behandlung mit Bluttransfusionen und Cytostatica: C 69 und Myleran^R. Die ALP-Aktivität lag zu Beginn der Krankheit um 30, die folgenden Jahre konstant um Null. Ab Frühjahr 1964 rapide Verschlechterung des Allgemeinzustandes, ständig stationär bis zum Tode im August 1964. Blutbild in den letzten Wochen vor dem Tode: Gesamt-leukozytenzahl 50 000, Myeloblasten 40%; Die ALP stieg 4 Monate vor dem Tode plötzlich in Normbereiche und erhöhte sich bis zum Tode bis über die Norm (Index 142), ein typisch terminaler Anstieg der ALP-Aktivität. Die Diagnose wurde gesichert durch Sternalpunktion, Myelotomie und Obduktion.

Zur Gruppe 2: B. O., 47jährige Patientin

Im Dezember 1960 Diagnosestellung der chronischen Myelose. Befunde: Leber 4 QF vergrößert, die Milz reichte bis in das kleine Becken. Leukozyten: 392 000, Thrombopenie. Der Befund des Sternalmarks war typisch für eine chronische myeloische Leukämie. Behandlung mit C 69 und Myleran^R. Im Juni 1963 erstmalige Bestimmung der ALP, die mit einem Wert über 70 im Normalbereich lag, im August und September desselben Jahres Absinken unter die Norm, dann erneut Anstieg, immer umgekehrt parallel zu den Leukozytenzahlen bis Januar 1964. In den folgenden Monaten erniedrigte ALP-Werte, im Mai 1964 erstmals an der Nullgrenze, danach wieder Anstieg auf subnormale Werte. Die Patientin hatte lange klinische Remissionen und konnte ihrer Arbeit als Hausfrau nachgehen. Eine volle hämatologische Remission ist nie eingetreten. Tod im Juli 1964.

In der 3. Gruppe befinden sich 2 Patienten, bei denen früher auf Grund des peripheren Blutbildes, des Sternalpunktates, der Myelotomie und der ALP-Aktivität eine initiale leukämoide Reaktion festgestellt wurde. Die Abgrenzung von einer myeloischen Leukämie war jedoch, wie auch von STORTI und MAURI (44) beschrieben, zeitweilig sehr schwierig. Die genannten Autoren geben als sicheres Differentialdiagnostikum beider Krankheitszustände das Verhalten der ALP an. Im Verlauf der klinischen Beobachtung dieser beiden Patienten entwickelte sich eine Polycythaemia vera mit hohen ALP-Werten. Bei einem Patienten wurde 2 Jahre nach der Untersuchung ein Philadelphia-Chromosom gefunden, sodaß sich in Einklang mit dem klinischen Status eine chronische Myelose entwickelt haben muß. In die Gruppe 3 wurden jedoch nicht solche Verläufe gerechnet, bei denen entweder im Verlauf eines Blastenschubes oder Infekts ein stärkerer ALP-Anstieg hervortrat, weil erstere sich besser in Gruppe 1 und 2 einreihen und bei den letzteren keine Gesetzmäßigkeit festzustellen war, wie im Folgenden noch erörtert wird.

3. Verhalten der alkalischen Leukozytenphosphatase in den verschiedenen Phasen der menschlichen chronischen myeloischen Leukämie.

a) unbehandelte Erkrankung.

Eine Reihe der Untersuchungen erstreckte sich über behandlungsfreie Phasen. Als solche wurde ein therapiefreies Intervall von mindestens 6 Wochen festgelegt, bzw. lag vor jeder Therapie. In der ersten Gruppe konnten bei 8 Patienten insgesamt 12 behandlungsfreie Phasen verfolgt werden, und in diesen blieb die ALP gemäß der Gruppierung stets niedrig. In der 2. Gruppe mit wechselnder ALP-Aktivität konnten unter 15 Patienten 23 behandlungsfreie Phasen beobachtet werden. Während dieser 23 Phasen blieb die ALP-Aktivität unter den Werten der Norm. In 8 Fällen war sie normal. Die behandlungsfreien Phasen decken sich nicht immer mit Remissionen, sondern liegen teilweise in Teilremissionen, zu Beginn von Rezidiven, bzw. in denjenigen Phasen, in denen die Patienten erstmals eine Behandlung erhielten.

(Siehe Tabelle 5).

Gruppe	Pat.-Zahl	Behandlungsfreie Phasen	ALP-Index	Mittlerer ALP-Index
1	8	12	0-36	11
2	15	23	0-100	34

Tabelle 5: Verhalten der ALP während behandlungsfreier Phasen

b) ALP in Remission nach Absetzen der Therapie

Von insgesamt 41 klinisch-hämatologischen Remissionen stieg bei 25 Remissionen die ALP leicht an, manchmal bis zur Norm. In 18 Remissionen blieb die ALP-Aktivität unverändert. Von diesen 18 Remissionen entfallen 16 auf diejenigen Patienten, die vorher der Gruppe 1 zugezählt wurden, d.h. Patienten mit starrem, um Null liegenden ALP-Verlauf. Die Patienten, bei denen in der Remission die ALP anstieg, sogar häufig bis in Normalbereich, waren entweder erst bis zu 5 Monaten krank oder wiesen klinisch-hämatologisch einen Krankheitsverlauf mit längeren Remissionen und besserem Allgemeinbefinden auf. (Siehe Tabelle 6).

Gruppe	Zahl d.Pat.	Zahl d. Remissionen	ALP-Index	Mittlerer ALP-Index
1	9	16	0-20	10
2	12	25	10-100	32

Tabelle 6: Verhalten der ALP während klinisch-hämatologischer Remissionen nach Absetzen der Therapie.

c) ALP in Remission unter gleichzeitiger cytostatischer Dauertherapie.

Bei 11 Patienten konnten unter fortgesetzter cytostatischer Therapie Remissionen verfolgt werden. Der Grund für das Fortsetzen der Therapie lag in der Eigenart der Krankheitsverläufe, nach Absetzen der Therapie sofort wieder in das Rezidiv umzuschlagen. Deshalb mußte in diesen Fällen auf die angestrebte cytostatische Intervallbehandlung(EHRHART (5),(6)) verzichtet werden. Der mittlere ALP-Index liegt hierbei eindeutig niedriger als während Remissionen ohne cytostatische Dauertherapie (vgl. Tabellen 6 und 7).

Gruppe	Zahl d.Pat.	Zahl der Remissionen	ALP-Index	Mittlerer ALP-Index
1	5	5	0-12	5
2	6	10	2-60	24

Tabelle 7: Verhalten der ALP während klinisch-hämatologischer Remissionen unter gleichzeitiger cytostatischer Therapie.

d) ALP im Rezidiv

Bei 17 Patienten konnten während der Untersuchungszeit 21 Rezidive verfolgt werden. Bei den Patienten beider Gruppen werden keine wesentlichen Unterschiede im ALP-Index zu den Remissionen unter cytostatischer Therapie festgestellt. Hingegen ist der Unterschied zu den Remissionen nach Absetzen der Therapie deutlich (vgl.Tab.8).

Gruppe	Zahl d.Pat.	Zahl d.Rezidive	ALP-Index	Mittlerer ALP-Index
1	10	13	0-23	5
2	7	8	0-85	22

Tabelle 8: Verhalten der ALP während des Rezidivs

e) ALP im terminalen Blastenschub

Von 7 während der Verlaufsbeobachtung verstorbenen Patienten mit chronischer Myelose war bei 5 ein terminaler ALP-Anstieg verbunden mit akutem Blastenschub zu verzeichnen. Bei diesen 5 Patienten fiel ein deutlicher Anstieg der ALP während der letzten Krankheitsphase auf. Die Werte der ALP waren teils an der oberen Grenze der Norm (80/98), teils weit darüber (190/170/142). In 2 Fällen ging der Anstieg der ALP der Blastenkrise um einige Wochen voraus.(siehe Tabelle 9).

Gruppe	Zahl d.Pat.	Zahl d.termin. Blastenkrisen	ALP-Index Mittlerer ALP-Index
--------	-------------	---------------------------------	-------------------------------------

1	3	3	0-160	65
2	2	2	30-190	119

Tabelle 9: Verhalten der ALP-Aktivität während des terminalen Blastenschubes.

2 Patienten mit chronischer Myelose zeigten keinen terminalen ALP-Anstieg. Im Gegenteil fiel bei der Patientin H.E., 32J., die ALP etwa 1 Monat vor dem Tode aus dem unteren Normbereich bis auf 8 ab (=Bestimmungswert am Tag vor dem Tode der Patientin). Bei der 2. Patientin E.Th., 61 J., blieb die ALP bis zum Tode konstant erniedrigt.

f) ALP bei zusätzlichem Infekt

Bei unseren Verlaufsbeobachtungen achteten wir auf etwaige Veränderungen der ALP-Aktivität während interkurrenter Infekte. In der überwiegenden Zahl der beobachteten bakteriellen und virusbedingten Infektionen war kein Einfluß auf die ALP-Aktivität festzustellen. Bei 3 Patienten jedoch fielen Erhöhungen der ALP bis auf 200 zusammen mit schwereren fieberhaften infektionsbedingten Zuständen, während andererseits solche Erhöhungen aber auch ohne klinischen Infekt bei einzelnen Patienten vorkam, wobei ein Blastenschub ausgeschlossen werden konnte. Die Erhöhungen der ALP während Infekten fanden sich bei Patienten sowohl der Gruppe 1 als auch der Gruppe 2.

4. ALP-Index im Vergleich zum simultan bestimmten Nicotinamid-adenin-dinucleotid.(Siehe Tabelle 10).

Bei 12 Patienten mit chronischer Myelose wurde im Verlaufe eines Jahres die ALP mit dem nach der Methode von EHRHART und SCHEFFEL (8) bestimmten NAD-Gehalt der Leukozyten verglichen. In 9 beobachteten Remissionen nach cytostatischer Therapie war der NAD-Gehalt bei 7 Fällen im Normbereich, zweimal war er leicht erhöht. Dagegen normalisierte sich die ALP-Aktivität nur in 2 Fällen während der Remissionen, die beide der Gruppe 2 angehörten. Von den 10 beobachteten Rezidiven war der NAD-Gehalt der Leukozyten in 7 Fällen erhöht, in 3 Fällen normal bis leicht erhöht. Die ALP-Aktivität war in 8 Fällen erniedrigt, in einem Fall stark erhöht, und einmal normal. Von den 10 Rezidiven ist bei 8 Fällen eine Übereinstimmung von ALP-Aktivität und NAD-Gehalt in den Leukozyten zu beobachten, gleichmäßig auf Gruppe 1 und 2 verteilt.

Der Vergleich der ALP-Aktivität mit dem NAD-Gehalt vor und während Remissionen (siehe Tab.10) zeigt deutlich, daß sich in beiden Gruppen der NAD-Gehalt der Leukozyten stärker verändert als die ALP-Aktivität und sich im Gegensatz zur ALP-Aktivität während der Remission praktisch normalisiert. Die nach der ALP-Aktivität vorgenommene Einteilung der Verläufe in 2 Hauptgruppen findet auch in der Unterschiedlichkeit des NAD-Verhaltens dieser 2 Gruppen ihre Bestätigung.

Gruppe	Pat.	Z.d.Remiss.	Mittlerer	Mittlerer	ALP-I.wR	NAD-v.R.
			ALP-Index	NAD-Index	ALP-I.vR	NAD-w.R.
			v.R.w.R.	v.R. w.R.		

1	4	3	7	9	58	38	1,3	1,5
2	4	6	18	27	68	34	1,5	2,0

Tabelle 10: Verhalten von ALP-Index und NAD-Gehalt vor und während klinisch-hämatologischer Remissionen.

(v.R.=vor Remission; w.R.=während Remission)

5. Zusammenfassung der Ergebnisse.

Nach der Beobachtung des ALP-Verhaltens im Verlauf von chronischen Myelosen des Menschen konnten 2 Hauptgruppen aufgestellt werden:

- 1.) ALP-Aktivität unabhängig von der Krankheitsphase konstant erniedrigt und kaum schwankend (10 Patienten).
- 2.) ALP-Aktivität mit den einzelnen Krankheitsphasen schwankend (15 Patienten).

In der 2. Gruppe wird deutlich, daß die ALP in der Remission ansteigt und im Rezidiv abfällt. In beiden Gruppen zeigt sich anhand des ALP-Verhaltens ein Unterschied zwischen der echten, die cytostatische Therapie erübrigenden Remission, und der labilen, auf die Fortführung der Therapie angewiesenen Remission. Bei der letzteren wird die gleiche, stark erniedrigte ALP-Aktivität wie während eines Rezidivs gefunden.

Es besteht nur eine teilweise synchrone Veränderung der ALP-Aktivität und des Leukozyten -NAD-Gehaltes während der einzelnen Phasen der chronischen Myelose. Dabei reagiert der NAD-Gehalt empfindlicher und zuverlässiger auf Phasenänderungen und verschiebt sich stärker als die ALP-Aktivität. Zwar ergibt sich aus dem Vergleich zahlreicher Verläufe von chronischer Myelose das skizzierte Verhalten der ALP-Aktivität in den einzelnen Phasen, jedoch ist im Einzelfall die Höhe der ALP-Aktivität nur ein unsicheres Diagnosticum. Dieses wird besonders bei der ungesetzmäßigen Reaktion auf interkurrente Infekte deutlich.

III. Diskussion der Ergebnisse.

Es ist von zahlreichen Autoren darauf hingewiesen worden, daß während der Remission bei chronischen Myelosen die ALP ansteige (CARBONE und Mitarbeiter (3), LINKE und LÖFFLER (26), MERKER und HEILMEYER (30), XEFTERIS und Mitarbeiter (55)). Andererseits wird aber auch darauf hingewiesen, daß dieser ALP-Anstieg in der Remission nicht zwangsläufig sei (CARBONE und Mitarbeiter (3), HELBIG und WEISSEL (15), LAMBERS (25), TANAKA und Mitarbeiter (46)), sogar gegenläufiges Verhalten wurde bei 2 Patienten beschrieben (KEISER und ALSLEBEN (21)). Auch der Abfall der ALP-Aktivität während des Rezidivs wurde wiederholt beschrieben (CARBONE und Mitarbeiter (3), KEISER und ALSLEBEN (21), KRUG (24), LINKE und LÖFFLER (26), MERKER und HEILMEYER (30), XEFTERIS und Mitarbeiter (55), HELBIG und WEISSEL (15)).

In den eigenen Untersuchungen konnten die Patienten nach dem Gehalt ihrer Leukozyten an NAD und ALP in den verschiedenen Phasen der chronischen Myelose in 2 Gruppen eingeteilt werden, von denen die eine in ihrem Verhalten mit den Angaben in der Literatur übereinstimmt, die andere jedoch vor allem durch ein phasenunabhängiges Verhalten der ALP ausgezeichnet ist. Es fragt sich, in wieweit diese Gruppierungen verschiedenen Krankheitsstadien entsprechen. Bei der klinischen Beobachtung derjenigen Patienten, die wir der Gruppe 1 zurechnen, fiel auf, daß es sich um besonders schwere Verläufe und teilweise um Myelosen in den Endstadien handelte. Dementsprechend haben auch XEFTERIS und Mitarbeiter (55) darauf hingewiesen, daß die stark erniedrigte ALP während der Remission eine gewisse prognostische Bedeutung habe und Patienten zuzuordnen sei, die sich in einem fortgeschrittenen Stadium der Erkrankung befänden. Bei einzelnen Patienten können wir im Verlauf der Erkrankung einen Übergang von Gruppe 2 in die Gruppe 1 feststellen. Bei den übrigen Patienten war die Beobachtungszeit in Bezug zum gesamten Krankheitsverlauf nicht aus-

reichen lange um einen Übergang von der einen in die andere Gruppe ausschließen zu können. Es hat daher den Anschein, daß die Leukozyten im fortgeschrittenen Stadium der Myelose die Fermentbildung mehr und mehr einschränken. Der NAD-Gehalt der Leukozyten ist höher. Es erscheint jedoch nicht berechtigt, hierin eine Zunahme der Malignität zu erblicken, da im Blastenschub von anderen Autoren wie FISCHER und Mitarbeiter (11), HELBIG und WEISSEL (15), LINKE und LÖFFLER (26), HAMMOUDA und Mitarbeiter (14), und in den eigenen Beobachtungen ALP-Anstiege bis über die Norm gesehen wurden. Von FISCHER und Mitarbeitern (11) wurde hierfür die Vermutung ausgesprochen, daß es sich um eine "finale Aktivierung einer noch vorhandenen Restgranulopoese" handle. Die Eigentümlichkeit dieser "finalen Aktivierung" ist damit aber keineswegs erläutert. Auch auf cytogenetischer Ebene läßt sich keine eindeutige Malignitätszunahme in Form von zunehmenden Chromosomenanomalien zum terminalen Stadium hin konstatieren (HAMMOUDA und Mitarbeiter (14)). Ein weiteres interessantes Ergebnis von Chromosomenuntersuchungen während des Blastenschubes ist, daß mit dem terminalen ALP-Anstieg keine Restitution des Chromosoms 21 verbunden ist. Hieraus wird wiederum deutlich, daß keine direkte Abhängigkeit von sichtbarer Chromosomenstruktur und Fermentaktivität vorliegt.

Bei dem Vergleich der ALP-Aktivität während Remissionen mit und ohne cytostatische Therapie dürfen die Fermentunterschiede nicht einfach der cytostatischen Wirkung zugeschrieben werden. Es steht zwar fest, daß unter cytostatischer Stoßtherapie zwangsläufig Veränderungen der ALP hervorzurufen sind (MÜLLER (33)); hierbei handelt es sich nach einmalig hohen Dosen von Endoxan anscheinend um eine vorübergehende Störung der Fermentmatrix in den unreifen Vorstufen der Granulopoese. Es resultiert ein vorübergehender Aktivitätsabfall der ALP in den peripheren Blutzellen. Für die Fortsetzung der Therapie war bei der einen Gruppe von Remissionen die Tatsache bestimmend, daß nur bei fortgesetzter Therapie der Zustand der Remission aufrechterhalten werden konnte.

Der Unterschied, daß bei Remissionen ohne cytostatische Behandlung höhere ALP-Werte gefunden wurden, als bei solchen mit Behandlung, bei denen ALP-Werte wie im Rezidiv vorliegen, dürfte deshalb vielmehr Ausdruck dafür sein, daß bei letzteren Remissionen weniger Restitution erfolgt als bei denen, die ohne Therapie fortbestehen. Die Wirkung der Cytostatica auf den ALP-Gehalt der Leukozyten ist dementsprechend im therapeutischen Anwendungsbereich eine indirekte: der durch sie erzielte Grad der Restitution bestimmt die Fermentaktivität der alkalischen Leukozytenphosphatase. LINKE und LÖFFLER (26) deuten diese indirekte Wirkung der Cytostatica auf die Fermentaktivität der ALP als eine Verschiebung zweier unterschiedlicher Populationen der Granulopoese. Sie nehmen eine gesunde Granulozytenpopulation mit normaler Fermentaktivität und eine leukämische Population mit erniedrigter Fermentaktivität an. Die Cytostatica veränderten das Verhältnis dieser beiden Populationen zugunsten der gesunden und bewirkten damit eine Erhöhung der Gesamt-ALP. Nach den Untersuchungen von LOHMANN und WEISSEL (28), bei denen eine Abhängigkeit der Fermentaktivität von Plasmafaktoren gezeigt werden konnte, muß auch daran gedacht werden, daß das unterschiedliche Verhalten der ALP in den einzelnen Phasen der chronischen Myelose durch humorale Einflüsse mitbestimmt wird. Es bleibt dahingestellt, ob beispielsweise während eines Rezidivs im Plasma der Myelosekranken vermehrt Stoffe auftreten, die die Fermentbildung in den Granulozyten hemmen.

Der Vergleich von NAD- und AP-Gehalt der Granulozyten in den verschiedenen Krankheitsphasen der chronischen Myelose erbrachte nur eine teilweise synchrone Veränderung mit den einzelnen Krankheitsphasen. Hierbei wurde deutlich, daß in der Bestimmung des NAD-Gehaltes der Leukozyten ein System zugänglich wurde, das empfindlicher Auskunft gibt über Phasenänderungen der Erkrankung als die Bestimmung der alkalischen Leuko-

zytenphosphatase, die z.B. bei Infekten Myelose-
kranker auch stärker ansteigen kann (BORCHERS (2)).
Aus dem Vergleich von NAD-Gehalt und Phosphatase-
Gehalt der Leukozyten kann in dieser Arbeit nicht mit
Sicherheit auf eine Abhängigkeit des einen vom anderen
geschlossen werden. Weitere biochemische Untersuchungen
über Funktion und Bildung der ALP müssen ergeben, inwie-
weit in der leukämischen Zelle eine einheitliche
Störung vorliegt, die für die Erhöhung des NAD- und
die Erniedrigung des ALP-Gehaltes verantwortlich ist.

IV. Zusammenfassung.

In vorliegender Arbeit wurde die Bestimmung der ALP
in einem halbquantitativen Verfahren nach der Modi-
fikation von MERKER und HEILMEYER (30) bei 30 Normal-
personen, 10 Patienten mit Polycythaemia vera und bei
35 Patienten mit chronischer Myelose als Verlaufsbe-
obachtung über 2 Jahre durchgeführt. Bei 12 Patienten
mit chronischer Myelose wurde simultan zur ALP-Aktivität
der NAD-Gehalt der Leukozyten nach der Methode von
EHRHART und SCHEFFEL (8) bestimmt.

Bei der chronischen Myelose lassen sich anhand des
ALP-Verhaltens 2 Gruppen aufstellen, von denen in
der einen die ALP-Aktivität konstant erniedrigt ist,
in der 2. ein Schwanken der Fermentaktivität zu ver-
zeichnen ist. In dieser 2. Gruppe liegen die ALP-
Werte während der Remission nach Absetzen cytostatischer
Therapie deutlich höher als im Rezidiv und auch höher
als in Remission unter cytostatischer Dauertherapie.
Es wurde der Versuch unternommen, das unterschiedliche
Verhalten der ALP in den 2 Gruppen auf unterschiedliche
Phasen der Erkrankung zu beziehen. Eine direkte Ab-
hängigkeit der Fermentaktivität der ALP von cytostatischen

Substanzen kann nicht erwiesen werden.

Während der verschiedenen Krankheitsphasen der chronischen Myelose werden überwiegend gleichsinnige Veränderungen von ALP-Aktivität und NAD-Gehalt der Leukozyten gefunden, es kann jedoch keine direkte Abhängigkeit des einen vom anderen festgestellt werden.

Ursachen für die wechselnde Höhe der ALP-Aktivität während der einzelnen Krankheitsphasen werden diskutiert unter Berücksichtigung des möglichen Einflusses von Plasmafaktoren.

In 5 Fällen läßt sich im Verlauf eines terminalen Blastenschubes ein ALP-Anstieg über die Normwerte nachweisen.

V. Literatur

1. ACKERMAN, G.A.: Substituted Naphthol AS phosphate derivatives for the localisation of leukocyte alkaline phosphatase activity.
Lab.Invest.11, 563-567 (1962)
2. BORCHERS, H.G., P.C. SCRIBA, L. WENDL, G. SICKLINGER:
Zur Problematik des Index der alkalischen Leukozytenphosphatase in der Differentialdiagnose der chronischen Myeloischen Leukämie und der Osteomyelosklerose.
Blut (im Druck)
3. CARBONE, P.P., I.H. TJIO: The effect of treatment on the clinical, biochemical and cytogenetic abnormalities in patients with chronic myelogenous leukemia.
Proc. of the Am. Ass. f. Canc. Res. 4, 1 (1963)
4. DE CARLI, L., J.J. MAIO, F. NUZZO: Alkaline phosphatase activity and chromosome variation in human cells in culture.
J. of the Nat. Cancer Inst. 31, 1501-1509, (1963)
5. EHRHART, H.: Zytostatische Therapie der Hämoblastosen
Pharmakotherapie 2, 1, 59-88 (1964)
6. EHRHART, H.: Langzeit-Chemotherapie chronisch-myeloischer leukämien mit Myðeran und C 69.
Klin. Wschr. 40, 12, 622-631 (1962)
7. EHRHART, H., H. DÖRFLER: Untersuchungen über den Leukozytenstoffwechsel. I. Untersuchung. Eine neue Methode zur Isolierung von vitalen Leukozyten.
Blut 10, 231 (1964)
8. EHRHART, H., G. SCHEFFEL: Nikotinamid-adenin-dinucleotid (NAD)-Gehalt normaler und leukämischer Leukozyten des Menschen. II. Mitteilung.
Klin. Wschr. 43, 317-323 (1965)
9. EHRHART, H., G. SCHEFFEL: NAD-Gehalt isolierter Leukozyten und Krankheitsverlauf menschlicher chronischer Leukämien unter zytostatischer Therapie mit C 73. III. Mitteilung.
Klin. Wschr. 44, 307-314 (1966)

10. EHRHART, H.: Vortrag auf dem 11. Kongreß der Deutschen Gesellschaft für Hämatologie
Innsbruck (1965)
11. FISCHER, R., P. LORBACHER, K. SCHUHMACHER: Über den terminalen Anstieg der alkalischen Phosphatase bei chronischer Myelose.
Klin. Wschr. 41, 669 (1963)
12. GEORGII, A., P. GOLDBRUNNER: Über die alkalische Phosphatase in Leukozyten der Maus.
Frankf. Zeitschr. f. Path. 72, 209-217 (1962)
13. GOMORI, G.: Zur Methode der alkalischen Leukozytenphosphatasebestimmung.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 42, 523 (1939)
14. HAMMOUDA, F., D. QUAGLINO, F. G. HAYHOE: Blastic crisis in chronic granulocytic leukemia. Cytochemical, cytogenetic and autoradiographic studies in four cases.
British Med. Journal 1275-1281 (1964)
15. HELBIG, W., M. WEISSEL: Die Behandlung der chron. Myelose mit Myleran unter besonderer Berücksichtigung der alkalischen Leukozytenphosphataseaktivität.
MMW 48, 2390-2395 (1961)
16. HOLZER, H.: Mechanismen der Chemotherapie von Tumoren.
Zentralstelle f. Krebsbekämpfung,
Düsseldorf, Dezember 1962
17. HOLZER, H., G. SEDELMAYR, A. KEMNITZ: Zum Wirkungsmechanismus carcinostatischer Chemotherapeutica
Hemmung der Glykolyse durch Aethylenimin-Verbindungen.
Biochem. Z. 328, 163 (1956)
18. HOLZER, H.: Biochemische Mechanismen der Chemotherapie von Tumoren.
Med. Mschr. 18, 50 (1964)
19. HUNGERFORD, D. A., P. C. NOWELL: Chromosome studies in human leukemia. III. Acute granulocytic leukemia.
J. of the Nat. Canc. Res. 29 545-565 (1962)

20. KAPLOW, L.S.: A histochemical procedure for localising and evaluating leukocyte alkaline phosphatase activity in smears of blood and marrow.
Blood 10, 1023-1029 (1955)
21. KEISER, G., U. ALSLEHEN: Leukocyte phosphatase and blood diseases (significance for differential diagnosis and prognosis)
Schweiz. Med. Wschr. 93, 1-2 (1963)
22. KERPPOLA, W.: Blood 6, 454 (1951)
23. KOCH, E., D. REMY: Die alkalische Leukozytenphosphatase in der Differentialdiagnose hämatologischer Erkrankungen.
Klin. Wschr. 38, 26-28 (1960)
24. KRUG, K.: Die alkalische Leukozytenphosphatase und ihre Bedeutung für die moderne hämatologische Diagnostik.
Fortschr. Med. 82, 609-612 (1964)
25. LAMBERS, K.: Die alkalische Phosphataseaktivität der Blutzellen bei Leukosen und anderen pathologischen Zuständen.
Zeitschr. f. klin. Med. 155, 176-190 (1958)
26. LINKE, A., H. LÖFFLER: Über die alkalische Leukozytenphosphatase während der Therapie der reifzelligigen myeloischen Leukämie mit Trenimon.
9. Freiburger Symposium, Springer (1963)
27. LISS, E., G. PALME: Der Einfluß von alkylierenden Cytostatica auf den Nukleinsäurestoffwechsel von Ehrlich-Ascites-Tumorzellen.
Z. f. Krebsforschung 66, 196-206 (1964)
28. LOHMANN, D., M. WEISSEL: Die Abhängigkeit der alkalischen Leukozytenphosphatase von Plasmafaktoren.
Folia haematol. 8, 204 (1963)
29. MEISLIN, A.G., L.L. STANLEY, L.R. WASSERMAN: Leukocyte alkaline phosphatase activity in hematopoietic disorders.
Cancer 12, 760-766 (1959)

30. MERKER, H., L. HEILMEYER: Die alkalische Phosphatase
neutrophiler Leukozyten.
Dtsch. Med. Wschr. 85, 253-258 (1960)
31. MEYERHOF, O., H. GREEN: J. biol. Chem. 178, 655 (1949)
32. MORTON, R. K.: Nature (London) 172, 65 (1953)
33. MÜLLER, D.: Die Aktivität der alkalischen Leukozyten-
phosphatase unter cytostatischer Stoß-
therapie beim Malignomkranken.
Med. Klinik 59, 7-9 (1964)
34. NOWELL, P. C., D. A. HUNGERFORD: Chromosome studies in
human leukemia. II. Chronic granulocytic
leukemia.
J. of the Nat. Canc. Inst. 27, 1013-1021 (1961)
35. PLENERT, W.: Zytochemie der Leukozyten
Folia haemat. 81, 1-20 (1963)
36. PLUM, C. M.: Nord. Med. 43, 69 (1950)
37. PRITCHARD, J. A.: Leukocyte phosphatase in pregnancy
J. Lab & Clin. Med. 50, 432-436 (1957)
38. QUIGLEY, H. J., E. A. DAWSON, B. H. HYUN, R. P. CUSTER: The
activity of alkaline phosphatase in
granular leukocyte during pregnancy and
the puerperium: a preliminary report.
Am. J. of Clin. Pathology 33, 100-114 (1960)
39. RANLØV, P.: Leukocytic alkaline phosphatase in
haematology.
Danish Medical Bulletin 9, 171-178 (1962)
40. REMY, D.: Chromosomenanomalien bei Hämoblastosen
Dtsch. Med. Wschr. 89, 684-688 (1964)
41. ROBISON, R.: Biochem. J. 17, 286 (1923)
42. ROITT, I. M.: The inhibition of carbohydrate metabolism
in ascitestumorcells by ethylene-imines.
Biochem. J. 63, 300 (1956)
43. SIROLA, I., K. SIROLA: A histochemical study of alkaline
phosphatase in the leukocytes of blood
and bone marrow in various diseases.
Acta haematologica 18, 313-324 (1957)
44. STORTI, E., C. MAURI: Die leukämioide Reaktion
Handbuch der ges. Hämatologie 4, 2, 188-199
(1963)

45. TAKAMATSU, H.: T.Soc.Path.Jap.29, 492 (1939)
46. TANAKA, K.R., W.N. VALENTINE, R.E. FREDERICKS: Diseases or clinical conditions associated with low leukocyte alkaline phosphatase.
New England J. of Med. 262, 912-918 (1960)
47. UMENO, M.: Biochem.Z. 231, 339 (1931)
48. VACCARI, F., B. SABOTTO, E. MANZINI: alkaline phosphatase activity in shock.
Blood 10, 730-734 (1955)
49. VALENTINE, W.N., W.S. BECK, J.H. FOLLETTE, H. MILLS, J.S. LAWRENCE: Biochemical studies in chronic myelocytic leukemia, polycythaemia vera and other idiopathic myeloproliferative disorders.
Blood 7, 959-977 (1952)
50. VALENTINE, W.N., J.H. FOLLETTE, E.B. HARDIN, W.S. BECK, J.S. LAWRENCE : Studies on leukocyte alkaline phosphatase activity.
J. of Lab & Clin. Med. 44, 219-228 (1954)
51. VERCAUTEREN, R.: The intracellular distribution of alkaline and acid phosphatase in leukocytes.
Die Naturwissenschaften 41, 532 (1954)
52. VERZAR, F., E.J. DOUGALL: Absorption from the intestine. (London 1936) nach MERKER und HEILMEYER: Die alkalische Phosphatase neutrophiler Leukozyten.
Dtsch. Med. Wschr. 85, 253 (1960)
53. WACHSTEIN, M.D., N.Y. MIDDLETON: Alkaline phosphatase activity in blood and bone marrow cells.
J. Lab. & Clin. Med. 31, 1 (1946)
54. WILTSHAW, E., W.C. MOLONEY: Histochemical and biochemical studies on leukocyte alkaline phosphatase activity.
Blood 10, 1120-1131 (1955)
55. XEFTERIS, E., W.J. MITUS, D.B. MEDNICOFF, W. DAMASHEK: Leukocytic alkaline phosphatase in Busulfan induced remissions of chronic granulocytic leukemia.
Blood 18, 202-206 (1961)

Zu den Zeichnungen

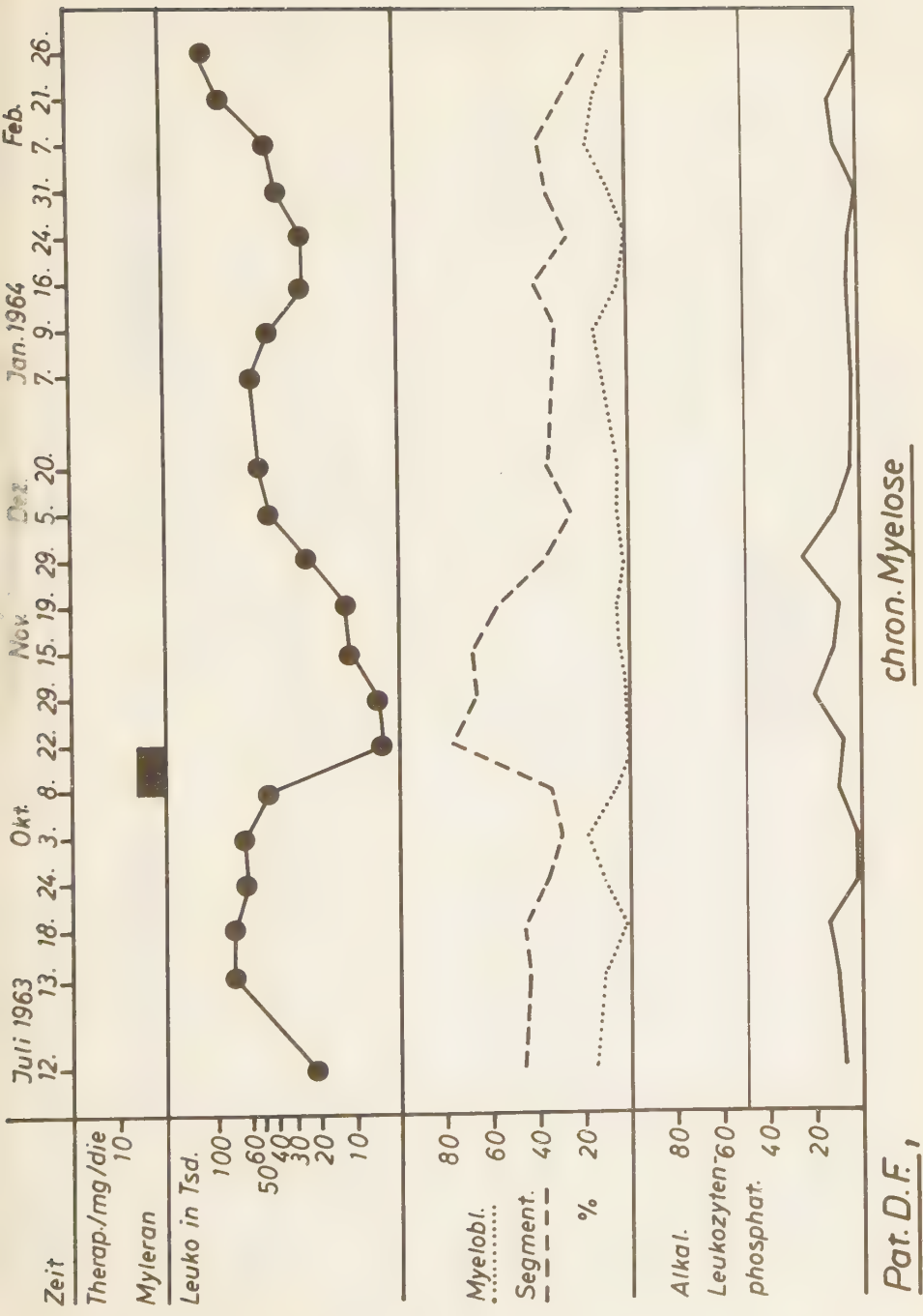
Patient D.F., chron.Myelose, zuzuordnen Gruppe 1

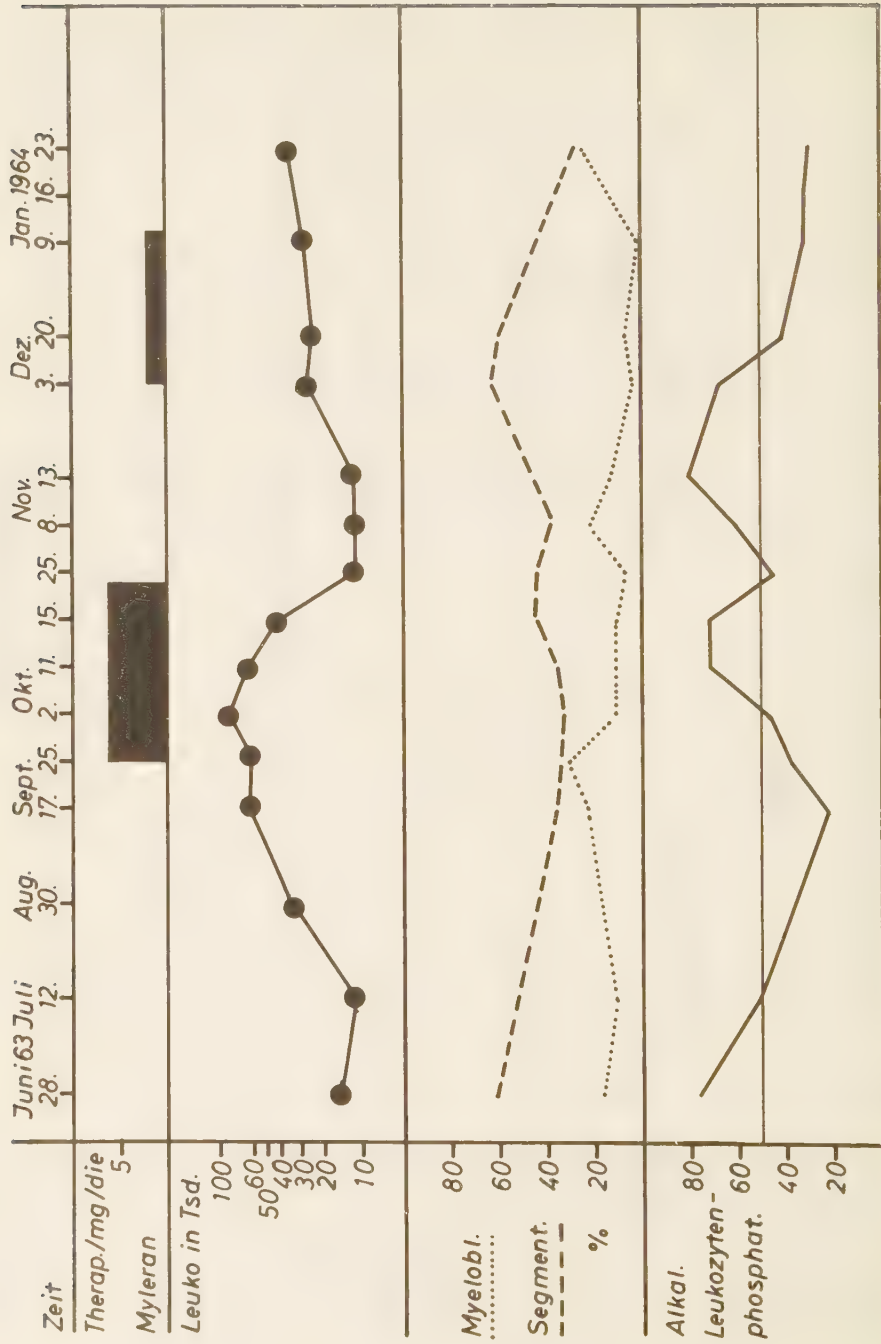
Patient B.O., chron.Myelose, zuzuordnen Gruppe 2

Patient Sch.G., chron. Myelose, ALP im akuten Blastenschub.

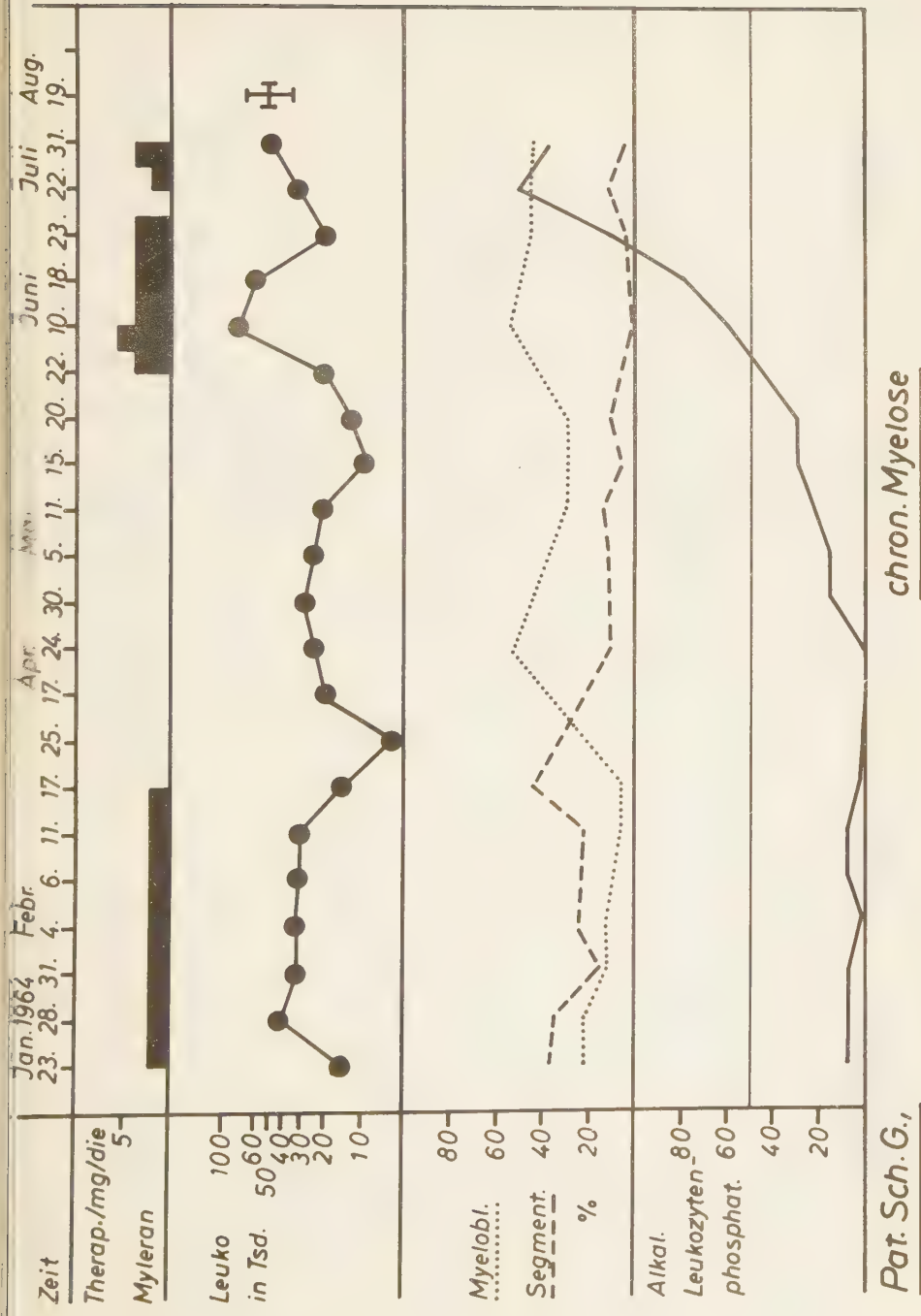
Patient B.O., chron.Myelose, Simultanbestimmungen
von ALP und NAD der Leukozyten

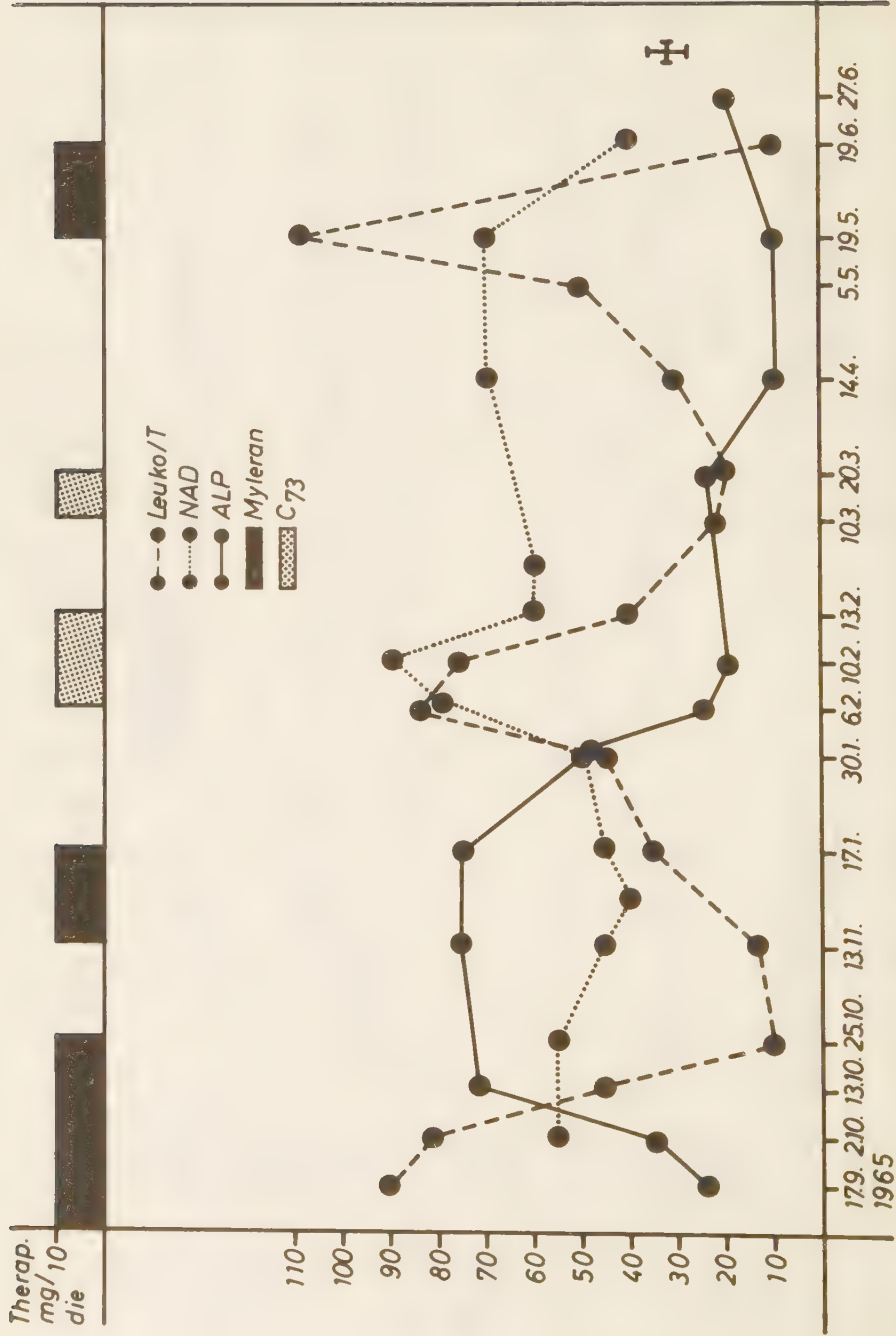
Patient A.O., chron. Myelose, Simultanbestimmungen
von ALP und NAD der Leukozyten.



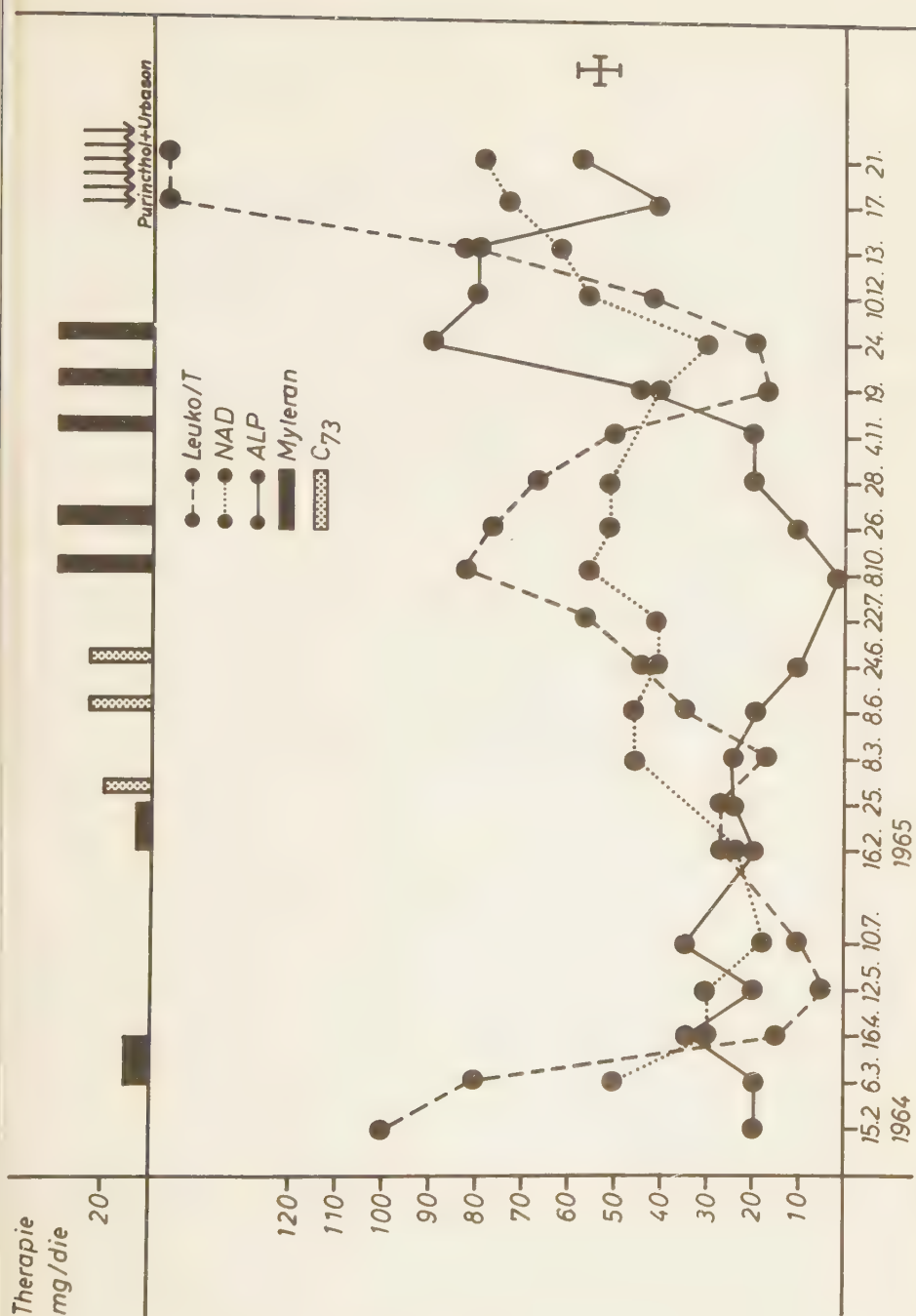


Pat. B.O.,





Pat. B.O., chron. Myelase



Pat. A.O., chron. Myelose

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof.Dr. Schwiegk, dem Direktor der I. Medizinischen Klinik der Universität, München, meinen verbindlichsten Dank für die Erlaubnis aussprechen, an den Patienten seiner Klinik diese Untersuchungen durchzuführen.

Herrn Dozenten Dr. Ehrhart bin ich für die Überlassung des Themas, für die Ratschläge und Lenkung beim Entstehen dieser Arbeit zu besonderem Dank verpflichtet. Ich danke weiterhin Frau Scheffel für ihre Ratschläge und technische Hilfestellung.

L e b e n s l a u f

Am 21.6.1938 wurde ich als Tochter des Polizeibeamten Karl Pletzenauer und seiner Ehefrau Sophie in Kötzing-Bav.Wald geboren. Meine Kindheit verbrachte ich in der Heimat meines Vaters in Sachrang/Chiemgau.

1951-1953 Besuch einer Mittelschule; Übertritt in ein Realgymnasium. Im Juni 1959 Abitur in Landshut-Seligenthal. Vorklinisches und klinisches Studium in München. Medizinisches Staatsexamen in München im Dezember 1965.

Im Juli 1966 Eheschließung mit Dr.P.Dörmer, wissenschaftlicher Assistent am Institut für Hämatologie, München.

Vom 1.1.66.-31.10.1966 arbeitete ich als Medizinisch-
assistentin an der I. Medizinischen Klinik der Universität München.

Seit dem 1.11.1966 bin ich an der Dermatologischen Klinik der Universität München beschäftigt.

